

Instruções de Utilização de Diatabs™

Revisão:

DBV0008B

Data de emissão:

12.04.2013

Língua:

Português

Diatabs™

Para identificação bacteriana

Fabricante

ROSCO Diagnostica A/S, Taastrupgaardsvej 30, DK-2630 Taastrup, Dinamarca, www.rosco.dk

Utilização a que se destina

Para ser utilizado em procedimentos qualitativos para detectar propriedades microbianas *in vitro* para a identificação de microrganismos. Os testes de identificação encontram-se disponíveis sob a forma de comprimidos individuais.

Princípios do método

Os Diatabs podem dividir-se em dois grupos: Diatabs para colocação em placas de ágar e Diatabs para dissolver em líquido. A maioria dos Diatabs proporcionam testes rápidos utilizando reacções enzimáticas cromogénicas e testes convencionais modificados. Os Diatabs colocados em placas de ágar detectam padrões naturais de susceptibilidade ou necessidades de factor de crescimento. Após a incubação, as placas são examinadas e os diâmetros das zonas de inibição em volta do comprimido são medidos e comparados com as tabelas de interpretação das zonas (sensível/resistente) de cada comprimido. Os Diatabs utilizados em líquido baseiam-se nas propriedades enzimáticas dos microrganismos detectados por vários sistemas indicadores.¹

Poderá obter mais informações acerca de Diatabs para identificação bacteriana do Guia do Utilizador de Diatabs² em www.rosco.dk.

Instruções de conservação

- 1) Após recepção, verificar o símbolo da temperatura no rótulo. Os Diatabs com um símbolo de 2°C a 8°C devem ser conservados num frigorífico e os Diatabs com um símbolo de 25°C como temperatura máxima no rótulo devem ser conservados à temperatura ambiente.
- 2) Se os Diatabs forem conservados no frigorífico, deixar os frascos atingirem a temperatura ambiente antes de os abrir, ou seja, aguardar 30 a 60 minutos, para evitar a formação de condensação nos comprimidos.
- 3) Manter os Diatabs nos frascos bem protegidos da luz directa e evitar a exposição a um elevado grau de humidade. Manter dentro do frasco o material de absorção de humidade (uma cápsula dessecante), caso haja.

O prazo de validade nos frascos aplica-se apenas aos frascos com tampas conservados à temperatura correcta.

Reagentes

Os Diatabs são comprimidos de 6 ou 9 mm fornecidos em frascos que contêm 15, 25 ou 50 comprimidos. Os comprimidos de 9 mm são impressos em ambos os lados com um código exclusivo de 5 caracteres. Os comprimidos de 6 mm, que são utilizados no ágar, possuem um código de cor e os Diatabs destinados a dissolver em líquido não têm código. O utilizador deve manter-se atento ao conteúdo da proveta quando utilizar mais de um tipo de Diatabs.

Precauções

Cumprir as instruções de utilização. Nenhum dos comprimidos se destina a utilização em testes de sensibilidade. O desempenho dos Diatabs depende não só dos Diatabs específicos, mas também da

utilização correcta do inóculo, do tempo de incubação e da interpretação do diâmetro das zonas ou da alteração da cor. Os produtos só devem ser utilizados por técnicos devidamente qualificados. Utilizar uma pinça para segurar nos Diatabs.

É necessário tomar precauções relativamente aos perigos microbiológicos, esterilizando adequadamente as amostras, os recipientes, os meios de cultura e as provetas, após a sua utilização. Os Diatabs, tubo e as placas de ágar com potenciais agentes patogénicos são eliminados como resíduos microbiológicos.

Amostra

A colheita e manuseamento da amostra deve processar-se de acordo com as linhas de orientação recomendadas. A amostra deve consistir numa cultura pura completamente típica das espécies a identificar.

Método

Materiais fornecidos: Diatabs conforme descrito no rótulo do recipiente.

Materiais necessários mas não fornecidos: Meios de cultura, provetas, reagentes, organismos de controlo de qualidade e equipamento de laboratório necessário para a identificação, por exemplo, ansas de inoculação, zaragatoas, pipetas e frascos de colheita.

I. Diatabs colocados em ágar

A susceptibilidade dos microrganismos isolados, provenientes de amostras clínicas, aos micróbios e outros agentes pode ser útil para a identificação. É possível caracterizar e distinguir os microrganismos medindo o tamanho do diâmetro das zonas após cultura com um inóculo normalizado aplicado a um meio de ágar específico.

I.1. Preparação do inóculo

Suspender várias colónias morfológicamente semelhantes provenientes de uma placa (não selectiva) de ágar submetido a cultura durante 18 a 24 horas em 4 a 5 ml de solução de NaCl a 0,9% de modo a obter uma turvação comparável ao padrão 0,5 da escala de McFarland.

I.2. Inoculação

Nos 15 minutos seguintes, introduzir uma zaragatoa de algodão esterilizada na suspensão ajustada e retirar o inóculo da mesma, exercendo uma pressão firme sobre o interior do tubo. Nos 15 minutos seguintes são utilizadas zaragatoas para inocular o ágar especificado na Tabela 1. Inocular a superfície seca da placa de ágar apropriada passando a zaragatoa sobre toda a superfície. Deixe a superfície secar 3 a 5 minutos ou, no máximo, 15 minutos antes de aplicar Diatabs à superfície do ágar.

I.3. Incubação e leitura das placas

Passados 15 minutos, colocar o lado do ágar para cima e incubar as placas consoante a espécie e de acordo com a Tabela 1 (condições aeróbias, anaeróbias ou em CO₂ a 5-10%). Examinar as placas após incubação de um dia para o outro, se nada mais estiver especificado na Tabela 1.

Os diâmetros das zonas de inibição completa são medidos conforme determinado por inspecção visual grosseira. As zonas são medidas até ao milímetro inteiro mais próximo.

RESULTADOS:

Comparar o diâmetro da zona registado com os indicados na Tabela 1. Os resultados obtidos para uma amostra específica podem ser relatados como Susceptível (S) ou Resistente (R), consoante as zonas de interpretação: utilizar a Tabela 1 para efectuar uma identificação preliminar da estirpe bacteriana.

II. Diatabs utilizado em líquido

II.1. Preparação do inóculo

O organismo a testar deve ter entre 18 e 24 horas de tempo e deve encontrar-se numa cultura pura. Os isolados de crescimento lento podem ser testados utilizando uma cultura com um tempo de 48 horas.

Preparar num tubo uma suspensão pesada (pelo menos da escala 4 de McFarland) do organismo de teste em 0,25 mL de solução salina. É possível inocular uma grande quantidade de Diatabs com um único inóculo.

II.2. Inoculação

Adicionar um Diatabs ao tubo. Alguns Diatabs requerem adicionalmente que se acrescente 3 gotas de óleo de parafina estéril ao tubo (especificados na Tabela 2).

II.3. Incubação e leitura dos tubos

Selar o tubo e incubar a uma temperatura entre 35 e 37°C durante 4 horas, de um dia para o outro ou conforme especificado na Tabela 2.

Após incubação, observar para ver se existe desenvolvimento na cor. No caso de alguns Diatabs, é necessário adicionar um reagente antes de ler a cor, e alguns Diatabs podem apresentar duas reacções.

Após interpretação do desenvolvimento da cor, adicionar um reagente e ler a nova cor (especificada na Tabela 2).

RESULTADOS:

Os Diatabs em líquido são pontuados de acordo com as reacções de cor. A Tabela 2 apresenta as reacções de cor para as estirpes negativas e positivas. Tome nota do resultado do teste num impresso de relatório apropriado.

III. Diatabs com um procedimento diferente

Oxidase

Colocar um papel de filtro espesso numa placa de petri, colocando os Diatabs sobre o mesmo. Deitar uma gota de solução salina em cima do comprimido, esperar 60 segundos e deitar outra gota de solução salina em cima. Quando o papel de filtro estiver molhado, esfregar a colónia sobre o mesmo a uma distância aproximada de 3 a 8 mm do rebordo do comprimido, utilizando uma ansa de plástico. Fazer a leitura após 2 minutos. É possível testar mais de um isolado utilizando o mesmo Diatabs e o mesmo papel de filtro.

Factor X, V e X+V

São utilizados comprimidos com factores de crescimento, hemina (Factor X) e NAD (Factor V) ou ambos os factores para a diferenciação de *Haemophilus* spp. Os três comprimidos são colocados no ágar, o de Factor X e o de Factor V a uma distância de 2 cm um do outro e o de factor X+V um pouco mais distante dos outros. Utilizar apenas meio de cultura isento dos dois factores de crescimento (por ex: ágar TSA).

Incubar de um dia para o outro a uma temperatura entre 35 e 37°C durante 18 a 24 horas, e observar para ver se existe crescimento ou ausência de crescimento junto de um dos comprimidos. Se o organismo necessitar de apenas Factor X, só se desenvolverá na proximidade dos comprimidos de factor X e X + V; se necessitar de apenas Factor V, só se desenvolverá na proximidade dos comprimidos de factor V e X + V; se forem necessários os dois factores para o organismo se desenvolver, tal só se verificará na proximidade dos comprimidos de factor X + V.¹

CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO

Deve utilizar-se um procedimento de controlo da qualidade que utilize as estirpes ATCC ou as estirpes conhecidas como positivas ou negativas para monitorizar o desempenho dos comprimidos. O controlo de qualidade deve ser realizado de acordo com os métodos estabelecidos de controlo de qualidade do laboratório. As reacções de cor positivas/negativas ou as estirpes sensíveis/resistentes são apresentadas nas Tabelas e indicam o correcto desempenho do procedimento em geral.^{1,3} Se forem observados resultados de qualidade aberrante, estes não deve ser referidos.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

1. Devem utilizar-se culturas puras de microrganismos, uma vez que uma população microbiana mista irá dar origem a resultados aberrantes.
2. A utilização de Diatabs para a identificação de microrganismos e interpretação dos resultados requer um técnico com experiência em métodos gerais de microbiologia, devendo esse técnico utilizar criteriosamente os seus conhecimentos, experiência, informações sobre a amostra e outros procedimentos pertinentes antes de referir a identidade do isolado.
3. Os resultados de testes adicionais podem afectar o resultado de identificação final.
4. Os resultados não se destinam a utilização em procedimentos de testes de susceptibilidade.
5. A precisão dos Diatabs baseia-se nas propriedades microbianas *in vitro* conhecidas para espécies bacterianas específicas com importância clínica ¹. Se forem encontrados resultados atípicos ou inconsistentes, recomenda-se a repetição dos testes. Deve considerar-se a elaboração de um relatório relativamente a um resultado imprevisto, podendo os isolados ser enviados para laboratórios de referência para a realização de outros testes.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Versalovic J et al.: Manual of Clinical Microbiology, 10th ed. 2011, ASM, Washington DC.
- 2) Diatabs User's Guide 8th ed. 2009. www.rosco.dk